

AA- 1995-109702/199515|

XR- <XRAM> C95-049820|

XR- <XRPX> N95-086524|

TI- Adsorbent for TGF beta-1, useful for its determin. - consists of

hydroxyapatite having a whisker- or needle-type structure. |

PA- BESTEX KK (BEST-N); MITSUBISHI MATERIALS CORP (MITV)|

NC- 001|

NP- 001|

PN- JP 7031875 A 19950203 JP 93178048 A 19930719 199515 B|

AN- <LOCAL> JP 93178048 A 19930719|

AN- <PR> JP 93178048 A 19930719|

FD- JP 7031875 A B01J-020/04|

LA- JP 7031875(3)|

AB- <BASIC> JP 7031875 A

Adsorbent for TGF beta-1, is composed of hydroxyapatite having crystalline shape similar to whisker or needle.

TGF beta-1 concn. is measured by adsorbing TGF beta-1 contg. liquid and desorbing it using H3PO4 buffer soln.

ADVANTAGE - TGF beta-1 is adsorbed selectively with the adsorbent. It is applicable for precise examination of TGF beta-1.

In an example, 1 mM HCl soln. contg. TGF beta-1 is permeated through column filled with 1.5g hydroxyapatite at 10 cm/sec and desorbed with 20-70 mM H3PO4 buffer soln. and 100-170 mM H3PO4 buffer soln. to recover inactive type TGF beta-1 and active type TGF beta-1, respectively.

Dwg.0/0|

DE- <TITLE TERMS> ADSORB; BETA; USEFUL; DETERMINE; CONSIST; HYDROXY;

APATITE; WHISKER; NEEDLE; TYPE; STRUCTURE|

DC- B04; J04; P34; S03|

IC- <MAIN> B01J-020/04|

IC- <ADDITIONAL> A61M-001/36; G01N-033/53; G01N-033/574|

MC- <CPI> B04-H06F; B05-B02A3; B11-C08D2; B12-K04A; J04-B01|

MC- <EPI> S03-E14H4|

FS- CPI; EPI; EngPI||

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-31875

(43) 公開日 平成7年(1995)2月3日

(51) Int.Cl. ^a	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
B 0 1 J 20/04		A 7202-4G		
A 6 1 M 1/36	5 4 0	9052-4C		
G 0 1 N 33/53		S 8310-2J		
// G 0 1 N 33/574		Z 9015-2J		

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平5-178048

(22) 出願日 平成5年(1993)7月19日

(71) 出願人 000006264

三菱マテリアル株式会社

東京都千代田区大手町1丁目5番1号

(71) 出願人 391009590

ベステクス株式会社

東京都豊島区南池袋2丁目26番4号

(72) 発明者 竹内 啓泰

埼玉県秩父郡横瀬町大字横瀬2270番地 三菱マテリアル株式会社セラミックス研究所内

(74) 代理人 弁理士 酒井 一 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 TGF- $\Delta\beta 1$ ▼の吸着剤及びTGF- $\Delta\beta 1$ ▼の検査方法

(57) 【要約】

【構成】 ヒドロキシアパタイトを有効成分とするTGF- β_1 の吸着剤並びに該吸着剤に、TGF- β_1 含有液を接触させて、TGF- β_1 を吸着させた後、該TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液によって吸着したTGF- β_1 を溶出させて、TGF- β_1 濃度を測定するTGF- β_1 の検査方法。

【効果】 本発明のTGF- β_1 吸着剤は、効率良くTGF- β_1 を吸着することができ、また本発明の検査方法では、TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液を選択するのみで、TGF- β_1 、更には活性型TGF- β_1 と不活性型TGF- β_1 とを選択的に分離し、微量であってもそれらの濃度を測定することができる。従って、本発明の吸着剤及び検査方法は、癌の診断等に極めて有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒドロキシアパタイトを有効成分とするTGF- β_1 の吸着剤。

【請求項2】 前記ヒドロキシアパタイトの結晶形状が、ウィスカー状又は針状であることを特徴とする請求項1記載のTGF- β_1 の吸着剤。

【請求項3】 請求項1又は2記載のTGF- β_1 の吸着剤に、TGF- β_1 含有液を接触させて、TGF- β_1 を吸着させた後、該TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液によって吸着したTGF- β_1 を溶出させて、TGF- β_1 濃度を測定することを特徴とするTGF- β_1 の検査方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、癌患者等において免疫が抑制されることが知られており、その免疫抑制の主体が活性型TGF- β_1 に基づくことを見出し、これに着目したものであって、血液中に増加したTGF- β_1 （transforming growth factors- β_1 、腫瘍細胞増殖因子の一種）を有効に吸着することができるTGF- β_1 の吸着剤及びその吸着剤を利用したTGF- β_1 濃度を測定する検査方法に関する。

【0002】

【従来の技術】癌治療業については種々研究開発がなされているが、癌治療においては化学療法や癌そのものによる免疫抑制が問題となっている。また治療前の早期発見、即ち癌診断方法も重要な要因である。従来癌を診断するには、通常患部組織を切除した細胞の形態を直接判定する方法が用いられており、場合によっては手術時まで良性、悪性の判定が困難であることもある。

【0003】一方、正常人血液中には、不活性型TGF- β_1 が存在しており、癌細胞に接触すると活性化される。また癌細胞の多くが活性型TGF- β_1 を産生したり、不活性型TGF- β_1 が酵素等により活性化され、更に血液中の活性型TGF- β_1 濃度が増加し、免疫が抑制されることが知られている。これらの現象は癌以外の種々の疾患でも見出されている。しかし、血液中等における微量のTGF- β_1 濃度を測定することは容易ではなく、高価であり、しかも活性型TGF- β_1 濃度を測定するのは更に困難であるのが実情である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】従って本発明の目的は、TGF- β_1 を効率良く吸着することができるTGF- β_1 の吸着剤を提供することにある。

【0005】本発明の別の目的は、微量のTGF- β_1 であっても有効にその濃度を測定することができるTGF- β_1 の検査方法を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、ヒドロキシアパタイトを有効成分とするTGF- β_1 の吸着剤

が提供される。

【0007】また本発明によれば、前記TGF- β_1 の吸着剤に、TGF- β_1 含有液を接触させて、TGF- β_1 を吸着させた後、該TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液によって吸着したTGF- β_1 を溶出させて、TGF- β_1 濃度を測定することを特徴とするTGF- β_1 の検査方法が提供される。

【0008】以下本発明を更に詳細に説明する。

【0009】本発明のTGF- β_1 の吸着剤は、ヒドロキシアパタイトであれば特に限定されるものではなく、必ずしもCa/Pモル比が理論値の1.67である必要はない。

【0010】前記ヒドロキシアパタイトの形状は、好ましくはカラム等に充填しやすい粒状又は粉状等であるのが好ましく、その平均粒径は5~3000 μ mの範囲であるのが望ましい。平均粒径が5 μ m未満の場合には、血液等のTGF- β_1 を含有する液を接触させるのが困難になり、3000 μ mを超える場合には、TGF- β_1 の吸着表面が減少するので好ましくない。

【0011】また前記ヒドロキシアパタイトの結晶形状は、吸着するTGF- β_1 が酸性タンパク質であり、ヒドロキシアパタイト結晶におけるa面に選択的に吸着するので、好ましくはa面の割合が多くなる結晶形状、即ちウィスカー状又は針状であるのが好ましい。

【0012】前記ヒドロキシアパタイトを調製するには、通常の湿式法、乾式法又は水熱法等により得ることができるが、特に結晶形状をウィスカー状又は針状とするためには、水熱法が好ましい。またヒドロキシアパタイトの形状を粒状又は粉状とするには、公知の噴霧乾燥による造粒、破碎造粒等の方法により行なうことができ、特に大きい粒径が必要である場合には、回転造粒法等を用いることもできる。

【0013】本発明のTGF- β_1 の吸着剤を使用するには、例えば前記ヒドロキシアパタイトをカラム等の筒状物に充填し、血液等のTGF- β_1 含有液を該筒状物内に流し込み、通過させる方法等により吸着させることができる。

【0014】本発明のTGF- β_1 の検査方法では、まず前記ヒドロキシアパタイトを有効成分とするTGF- β_1 の吸着剤に、血液等のTGF- β_1 含有液を接触させて、TGF- β_1 を吸着させる。ヒドロキシアパタイトとしては、結晶のa面を選択的に成長させたウィスカー状又は針状の結晶形状を有するものを使用するのが好ましい。

【0015】また前記接触は例えば前述のとおり、カラム等の筒状物にTGF- β_1 の吸着剤を充填し、TGF- β_1 含有液を流し込み通過させる方法、遠心器の遠心管中央に、TGF- β_1 の吸着剤を充填し、その上方から遠心器を作動させながら、検査するTGF- β_1 含有液を流し込む方法等により行なうことができる。

【0016】次に本発明の検査方法では、TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液により吸着したTGF- β_1 を溶出させる。該TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液とは、TGF- β_1 を選択的に溶出する濃度、好ましくは活性型TGF- β_1 と不活性型TGF- β_1 とを選択的に溶出する濃度、具体的には、リン酸濃度20~170mM、更に活性型TGF- β_1 を溶出させるには、リン酸濃度100~170mM、不活性型TGF- β_1 を溶出させるには、リン酸濃度20~70mMであるのが望ましい。

【0017】前記溶出は、前記TGF- β_1 が吸着したヒドロキシアパタイトに、前記リン酸緩衝液を接触させる方法、具体的には前記吸着剤にTGF- β_1 含有液を接触させる方法と同様な方法により行なうことができる。この際、リン酸濃度を変えて接触させ、流出する画分それぞれについて回収することにより、活性型TGF- β_1 と不活性型TGF- β_1 とを分離して回収することができる。

【0018】次いで本発明の検査方法では、前記回収したTGF- β_1 が溶出したリン酸緩衝液の画分中のTGF- β_1 濃度を測定することにより、TGF- β_1 含有液中のTGF- β_1 濃度を測定することができる。前記TGF- β_1 濃度の測定は、例えば紫外線吸光度測定、タンパク質発色試薬等を用いた発色による定量法等により行なうことができる。

【0019】

*【発明の効果】本発明のTGF- β_1 吸着剤は、ヒドロキシアパタイトを有効成分とするので、効率良くTGF- β_1 を吸着することができ、また本発明の検査方法では、前記吸着剤を利用し、TGF- β_1 を溶出させる所定濃度のリン酸緩衝液によって吸着したTGF- β_1 を溶出させるので、TGF- β_1 、更には活性型TGF- β_1 と不活性型TGF- β_1 とを選択的に分離し、微量であってもそれらの濃度を測定することができる。従って、本発明の吸着剤及び検査方法は、癌の診断等に極めて有用である。

【0020】

【実施例】以下実施例により更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0021】

【実施例1】不活性型TGF- β_1 に1mMのHClを添加して一部を活性型TGF- β_1 とした。次いで得られた溶液を、予め粒径150~88 μ mのヒドロキシアパタイト（針状結晶）1.5gを充填した、直径4mm、高さ10cmのカラムに10cm/秒の速度で流し込み、TGF- β_1 の吸着性を測定した。吸着性の測定は、0~350mMのリン酸緩衝液による溶出によって回収された画分を、紫外線吸収測定によって定量することにより行なった。その結果、20~70mMのリン酸緩衝液においては、選択的に不活性型TGF- β_1 が検出され、100~170mMのリン酸緩衝液においては、選択的に活性型TGF- β_1 が検出された。

*

フロントページの続き

(72)発明者 渡辺 聡

埼玉県秩父郡横瀬町大字横瀬2270番地 三菱マテリアル株式会社セラミックス研究所内

(72)発明者 鶴 秀一

東京都大田区東糀谷6丁目9番1-1104号

(72)発明者 山本 邦弘

東京都板橋区徳丸2丁目4番5-201号